

有機質肥料に關する微生物學的研究 (第一報)

菜種油粕の分解に就て 其一

(昭和六年十二月十日發行 土壤肥料學雜誌 第五卷第四號發表)

農學博士 板野新夫

荒川左千代

緒言

有機質肥料特に菜種油粕の分解に關して最近大杉博士⁽¹⁾⁽²⁾及び吉村博士⁽³⁾⁽⁴⁾等の教室に於て次の如き重要な業績が報告された。

大杉博士等の研究は形態性質を異にする一般の有機質窒素肥料が土壤中に於て分解するに關して、専ら之に及ぼす溫度、水分並びに其組成等を研究したものであつて菜種油粕はその分解が最も困難とされてゐる。

之に對して吉村博士等の研究は菜種油粕が從來蔬菜類及び煙草等に特効が認められてゐて、大豆油粕を以つてしても

尙代用し難いとさへ云はれる原因を明らかにする目的で行はれたものである。先づ原物の成分殊に有機鹽基を検索し、次いで之が條件を考慮することなく腐敗させ、その腐敗液に就いて更に有機鹽基を分析したのである。その結果菜種油粕は大豆油粕に比較して原物はコリンに著るしく富み、腐敗醗酵後は多量の酪酸、ロイシン及び芥子油を生成することに於て甚だしく相違を示してゐることが明らかとなつた。この他其分解の進行は至つて緩慢で、常に酸性を持続してゐるため分解中間生産物たる有機鹽基類が多く殘留しアムモニアの生成が反つて減少すると云ふのである。

由來有機質肥料の分解はその環境條件に依つて支配さるゝことが甚だしいのであるが、この分解に直接關係する微生物に就いては不明の點が頗る多いのである。

依つて著者等是有機質肥料に關する微生物學的研究を企圖し、まづ土壤中に於いて菜種油粕を分解する強力なアムモニア化菌類を検索し之が分離を試みることにした。その結果放射狀菌類は該作用に對して最も重要な關係を有することを認めたので茲にその概要を報告する次第である。

實 驗

供試土壤として大原農業研究所試驗地の水田土壤及び畑地土壤を一旦風乾して使用した。三〇〇㏄容の廣口瓶に、該土壤を夫々〇・五粒目に篩別し二〇〇瓦宛納め、之に市販菜種油粕（原物の全窒素五・三〇％）を二瓦加へ、良く混合した後更に蒸溜水を、水田土壤にて水田狀態を凝するために粗なる狀態の含水量に對して七二％、畑地土壤にて畑地狀態を凝するため粗なる狀態の含水量に對して四二％となる様に注加した。この廣口瓶には、ゴム栓に硝子小管を挿入し縮

栓を施して通氣を保つ様にしたるものをはめ、二八度の定溫器に納めて置いた。促溫後四日位は外觀に殆ど變化を認めなかつたが、菜種油粕區は常に特有の放射狀菌の臭氣に類似した臭氣を發生した。一〇日を経ると水田狀態の菜種油粕區は臭氣甚しく、赤褐色乃至黑色の光輝ある遊離鐵鹽を生成した。畑地狀態に於ても菜種油粕區は臭氣甚だ強く、之には白灰色の菌糸體が多數土壤の表面に現はれるのを見た。然るに其後に於ては特別の現象を認め得なかつた。

斯く保溫中は出来るだけ水分を恒量に補正して所定分析日には之を取出し、殺菌鍋にて良く攪拌混合した後水分、アムモニヤ態窒素、硝酸態窒素、細菌及び放射狀菌類の數量を測定した。

水分の定量は本邦現行法に従つて行つた。アムモニヤ態窒素の分析はハーバー(Harper)⁽⁵⁾に従ひ供試土壤一五瓦を振盪瓶に取り二〇%鹽化加里液三〇〇ㄔを加へ振盪器にかけて三〇分間振盪し、その濾液二〇〇乃至二五〇ㄔをケールダール・フラスコに入れ、之に酸化苦土一瓦及びパラフィン小片を加へて常法に従つて蒸溜した。蒸溜液は百分の一規定硫酸にメチール赤を指示藥として集め、一旦煮沸して炭酸ガスを驅逐した後同濃度の苛性曹達液を以つて滴定した。硝酸態窒素の分析⁽⁶⁾は供試土壤一〇瓦を五〇〇ㄔ容の三角瓶にとり、之に一〇〇ㄔの蒸溜水を加へ二〇分間振盪し、少量の酸化石灰を加へて得た濾液に就いて行ひ、フェノール・チイサルフォニック酸法に従つて比色的に定量した。

細菌類數量測定はワークスマン氏(Waksmán)法⁽⁷⁾に従ひ扁平法となし、その稀釋度は一〇〇〇〇〇乃至一〇〇〇〇〇〇分の一として用ひた。培養基は次の通りである。

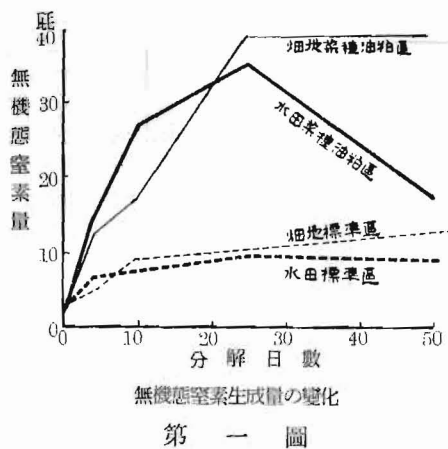
葡萄糖 一・〇瓦 鹽基性磷酸加里 〇・五瓦 硫酸苦土 〇・三瓦 硫酸鐵 痕跡 卵白アルブミン(粉末) 〇・二五瓦

蒸溜水 一〇〇〇ㄔ 寒天 一二・五瓦

培養温度は二八度に於いて一〇日保温し、各ベトリ皿内に發育した聚落よりその數量を算定した。
 今生成したる無機態窒素の數量を示せば第一表及び第一圖の通りである。

第一表 無機態窒素生成量の變化

試 驗 區	成 分	開 始 日 數				
		開 始	四 日	一 〇 日	二 五 日	五 〇 日
水田標準區	アムモニヤ態窒素	三・四四	六・四〇	七・六四	六・二四	三・〇八
	硝酸態窒素	〇・〇〇	〇・〇〇	〇・〇〇	三・三七	六・二七
	合計	三・四四	六・四〇	七・六四	九・六一	九・三五
水田菜種油粕區	アムモニヤ態窒素	三・四四	一五・二三	二六・八二	三五・五二	一六・六三
	硝酸態窒素	〇・〇〇	〇・〇〇	〇・〇〇	〇・〇〇	〇・〇一
	合計	三・四四	一五・二三	二六・八二	三五・五二	一六・六四
畑地標準區	アムモニヤ態窒素	三・六一	四・九三	九・三四	九・〇七	五・八一
	硝酸態窒素	〇・〇〇	〇・〇〇	〇・〇〇	二・八二	七・九九
	合計	三・六一	四・九三	九・三四	一二・八九	一二・八〇
	價	六・七二				六・〇一



第一表及び第一圖に明らかな如く、土壤中に於いて菜種油粕が分解して無機態窒素を化成する量は、水分の多少に支配

注意 數字は各乾燥土層一〇〇瓦當を示す。㊦價はキンヒドロソ法に依つて得た結果である。

御地菜種油粕區	アムモニア懸窒素	三・六一	二二・六四	二七・六四	三八・三三	二四・〇〇
	硝酸懸窒素	〇・〇〇	〇・〇〇	〇・〇〇	〇・〇〇	一四・三〇
合 計		三・六一	二二・六四	二七・六四	三八・三三	三八・三三
フ 價		六・七二				六・一八

さるること多きが如く、所定日數内に於ては一般に畑地狀態の方が水田狀態よりも遙かに多かつた。併し其の間に於ける硝酸鹽の生成量は極めて遅延し且つ生成量の割合も少なかつた。

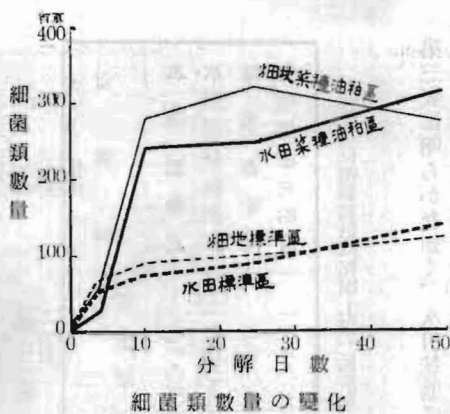
水田狀態に於ては、初期より無機態窒素への轉化量が旺盛で二五日を最高に、其後は急激に減少した。之に比較して畑地狀態に於ては漸進的で一日頃に至つて急激に増加し、二五日を最高とするが、その儘五〇日に至るも之を持続してゐた。これは第二表に示す如く細菌類の繁殖狀態と密接な關係に置かれるものであらう。尙水素イオン濃度は甚だしい變化を認めなかつたが、大體化成硝酸量に従つて傾酸性を示してゐた。

次に細菌類の數量に就いて得た成績を示せば第二表及び第二圖の通りである。

第二表 細菌類數量の變化

試驗區	解 日				
	開 始	四 日	一 〇 日	二 五 日	五 〇 日
水田標準區	一・四六	四八・一二	七四・一〇	八四・八八	一四〇・三六
水田菜種油粕區	一・四六	三三・四八	二四・〇六	二四六・二六	三二六・六九
畑地標準區	一・六九	五七・三二	九四・三二	九五・二〇	一二五・三二
畑地菜種油粕區	一・六九	五三・八三	二八〇・〇〇	三三二・三五	二七三・三六

注意 數字は乾燥土鹽一瓦當を示し百萬を單位とした。



第二圖

有機質肥料に關する微生物學的研究(第一報)

第二表及び第二圖に明らかな如く、細菌類數量の變化は前表の成績に類似した所があつて、水田狀態に於ては四日頃より急激に増加し、一〇日乃至二五日頃までは大した變化を認めなかつたが、其後は更に増加の傾向を示してゐた。之に比較して畑地狀態は大體水田狀態に類似はしてゐたが、其全數量は更に多く二五日を最高として爾後は減少の傾向を示してゐた。次に之等の全數量に就いて之を細菌型と放射狀菌型とに類別し其割合をみるのに第三表の如くであつて、糸狀菌の聚落は殆ど發生しなかつた。その理由は稀釋度が高すぎたのか、或は培養基が適しなかつたからであらう。

第三表 細菌類の類別及び其割合

試 驗 區	二 五 日 分 解		五 〇 日 分 解	
	細菌型 全數量に對 する割合	放射狀菌型 全數量に對 する割合	細菌型 全數量に對 する割合	放射狀菌型 全數量に對 する割合
水 田 標 準 區	七一・三〇	八四	一二〇・七一	八六
水田菜種油粕區	一七四・七八	七一	二九一・三六	九二
畑 地 標 準 區	五八・〇八	六一	八〇・二二	六四
畑地菜種油粕區	一一六・〇五	三六	七九・二八	二九
				一九四・〇八
				七一

注意 細菌類數量は乾燥土一瓦當を示し百萬を單位とした。

第三表に明らかな如く、水田狀態に於ては細菌の數量が多く全數量の約七〇乃至九〇%を占め、放射狀菌の數量は全數量の一〇乃至三〇%に過ぎなかつた。畑地狀態に於ては之と全く相反して細菌の數量は全數量の三〇乃至六〇%を示し、放射狀菌の數量が多く全數量の四〇乃至七〇%を示してゐた。放射狀菌の數量を扁平法で算定する場合、本菌類は糸狀態を成して孢子を形成し、又は分生孢子(Conidia)を生成して菌體が細破するので、多くはその數量の實數を望み難い憾みがある。然しながら大體孢子の形成はその繁殖に伴ふものであつて、聚落の發生が増加することは本菌類の活動を指示するものと見ることが出来る。従つて一般に水分の多い場合は細菌が増殖し水分の少ない場合は放射狀菌類が増殖するものであつて、菜種油粕を施用する時は放射狀菌類の發育を刺激し、その活動を助長するものと思はれる。

又之等細菌類の聚落發生の速度を観察するのに第四表に示す如く、發生の遅いものとされた⁽⁷⁾放射狀菌類の聚落も比

較的に急速性であつて、四日培養に於て四〇乃至九〇%の割合で發生した。

第四表 細菌類聚落の發生速度

試 驗 區	二 五 日 分 解		五 〇 日 分 解	
	四 日 培 養	一 〇 日 培 養	四 日 培 養	一 〇 日 培 養
水 田 標 準 區	四八%	五二%	四六%	五四%
水 田 菜 種 油 粕 區	五三	四七	四〇	六〇
畑 地 標 準 區	七二	二八	六三	三七
畑 地 菜 種 油 粕 區	八五	一五	九二	八

茲に於て前記聚落より常法に從て水田土壤より細菌六株、放射狀菌二株、畑地土壤より細菌二種、放射狀菌一二種を純粹に分離し、細菌は肉汁ペプトン寒天に、放射狀菌はチャベツク寒天に夫々培養して置いた。

又液體培養法に依つて細菌類の分離を試みるために、次示の如き培養液を調製して使用した。

油粕 一〇瓦 鹽基性磷酸加里 一〇・〇瓦 硫酸苦土 〇・二瓦 鹽化加里 〇・二瓦 鹽化鐵 〇・〇二瓦 蒸溜水 一〇〇〇・〇瓦

この培養液は固體培養に使用する時は更にペプトン二瓦、寒天一五瓦を之に添加し常法に從つて調製した。

液體培養を行ふには三〇〇瓦容の三角瓶に右培養液一〇〇瓦宛を納め殺菌した後、之に前記水田土壤及び畑地土壤各一瓦を接種し、三〇度に二乃至三日培養した後、之より一瓦を殺菌ビベットを以つて他の新培養液に移植して更に培養を續けた。

二乃至三回後右の固體培養基を使用して扁平培養を行つたのに、兩土壤共殆ど純粹と思はれる細菌が一種(第七號)發育した。次に肉汁ペプトン寒天を用ひて扁平培養を行つたのに二種の細菌(第八號及び第九號)が發育して放射狀菌及び糸狀菌の發育を認むる事は出来なかつた。

扱之等の細菌及び放射狀菌類は、はたして純粹狀態にて菜種油粕よりアムモニヤを化成するか否かを決定する目的で、前記の培養液を用ひて培養を行つた。即ち前各菌株(白金耳を夫々接種し、所定日間二八度の定溫器内に納め生成したアムモニヤ態窒素を前法に従つて測定した。細菌に對する二回の平均成績は第五表の通りである。

第五表 四二日培養後に於ける細菌のアムモニヤ態窒素生成量

番 號	アムモニヤ態窒素(底)	全窒素に對する割合(%)	番 號	アムモニヤ態窒素(底)	全窒素に對する割合(%)
田 I	〇・二八	〇・五三	田 VII	〇・九八	一・八五
田 II	一・六八	三・一七	田 VIII	〇・四二	〇・七九
田 III	四・四八	八・四二	田 IX	〇・五六	一・〇六
田 IV	一・九六	三・七〇	畑 I	一五・四〇	二九・〇五
田 V	一五・二六	二八・七九	畑 II	一七・三三	三三・四九
田 VI	〇・八四	一・五八			

細菌に依るアムモニヤ態窒素生成量は其保溫日數に對して割合に少なく水田系一種、畑地系二種が相當有力と認められたに過ぎなかつた。又液體培養に依つて得た菌株もアムモニヤ態窒素化成量は案外少量であつた。

次に放射狀菌のアムモニヤ態窒素生成量を檢定したのに二回の平均成績は第六表に示す通りであつた。

第六表 一五日培養後に於ける放射狀菌のアムモニヤ態窒素生成量

番 號	アムモニヤ態窒素(坩)	全窒素に對する 割合(%)	番 號	アムモニヤ態窒素(坩)	全窒素に對する 割合(%)
畑 I	六・四四	一二・二五	畑 VII	一四・二一	二六・八一
畑 II	二四・一五	四五・五七	畑 IX	〇・九八	一・八五
畑 III	一八九〇	三五・六六	畑 X	六・六五	一二・五五
畑 IV	七・九八	一五・〇六	畑 XI	二・九四	五・五五
畑 V	一七八五	三三・六八		二・二八	四・〇一五
畑 VI	一五・五四	一九・三三	畑 XII	七・〇〇	一三・二二
畑 VII	一六・〇三	三〇・三五	田 II	九・八七	一八・六一

放射狀菌のアムモニヤ態窒素生成量は細菌に比較して一般に旺盛であるが、就中畑地系には甚だ顯著な作用を有するものがあつて、一五日に全窒素の約四〇%に當るアムモニヤ態窒素を生成するものが二乃至三株あつた。ワークスマン氏⁽⁸⁾⁽⁹⁾に従へば、放射狀菌に依るアムモニヤ化成は相當強力で殆ど安定且つ遲延性であると云ふのであるが、これに對してこの成績は頗る興味あることと考へられた。

而してこれ等のうち最もアムモニヤ化成力の強きもの八株を選択して、その特徴を培養上檢査したのに有色型(Chromogenic type)と無色型(Non-chromogenic type)に區別することが出来、畑III號V號VII號、VIII號及びXII號の

五株は前者に、畑Ⅰ號Ⅱ號及び田Ⅰ號の三株は後者に屬してゐた。然共之等菌株のうち畑Ⅲ號とⅣ號の二株は同系統に屬し、畑Ⅴ號Ⅵ號及びⅦ號の三株は同系統に屬するものの如き成績を得た。この形態的及び培養的研究成績は追つて詳報することにした。

總 括

本研究は水田狀態及び畑地狀態に凝したる土壤中に於て菜種油粕を分解させ、之を微生物學的に分析したる實驗成績であつて、總括すれば次の通りである。

一、水田狀態に於て菜種油粕より無機態窒素の生成される量は、施用の初期より旺盛であつて、二五日頃最高に達し、其後は急激に減少した。この間細菌類の數量變化は大體その無機態窒素生成量と平行した關係をとるが、二五日後かへつて増加の傾向を示してゐた。畑地狀態の無機態窒素生成量は初期に於ては漸進的で、一〇日頃より急激に増進し二五日頃最高に達したまゝ五〇日頃までは之を持續した。この間に於ける細菌類の數量は水田狀態の場合に酷似したが、その全數量は更に多く、二五日を過ぎる頃には反つて減少的傾向を呈してゐた。

二、扁平法に従つて檢定すると水田狀態では専ら細菌が發育し、畑地狀態では主に放射狀菌が發育した。而して一般に菜種油粕を施用することに依つて放射狀菌の發育を促し、その活動を助長するが如き傾向を表はした。尙之等細菌類の聚落は殆ど急速性の發育をみた。液體培養法に従つて細菌類を分離する時は全く細菌のみが發育し、放射狀菌の發育は認められなかつた。

三、菜種油粕を分解してアムモニヤ態窒素を生成する有力な微生物は、放射狀菌類で細菌の作用は比較的僅少であつた
四、アムモニヤ化能力の強い放射狀菌八株に就き、その培養試験を行つて有色型二種五系統無色型三種に區別する事が出来た。

尙之等放射狀菌類に關しては追つて詳報する筈である。

参 考 文 獻

- (1) 大杉吉江 日本農藝化學會誌 第四卷 六一九頁 昭和四年
- (2) 大杉吉江 日本農藝化學會誌 第六卷 九一七頁 昭和五年
- (3) 吉村 無田 鹿兒島農學報告 第七號 四九頁 昭和四年
- (4) 吉村 同上 六三頁
- (5) Harper, H. J. *Soil Sci.*, 18: 409, 1924.
- (6) Official and Tentative Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists, 319, 1920.
- (7) Waksman, S. A., *Soil Sci.*, 14: 283, 1922.
- (8) Waksman, S. A., *Soil Sci.*, 8: 71, 1919.
- (9) Waksman, S. A., *Jour. Bact.*, 5: 1, 1920.